Cellules procaryotes et cellules eucaryotes – Cours Pharmacie

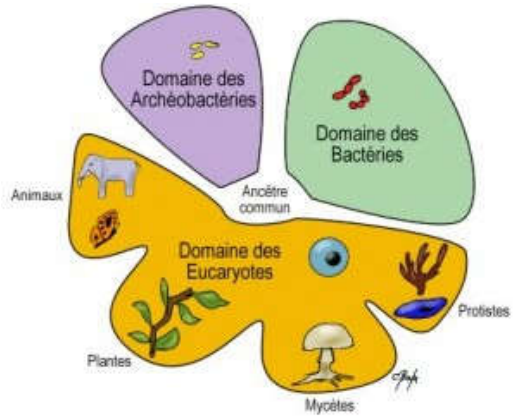
- 1) Les procayotes
- 2) Les eucaryotes

Les deux grands types d'organismes cellulaires, procaryotes et eucaryotes, ont un ancêtre commun unicellulaire appelé **proto-cellule** ou **progénote** qui est un organisme procaryote.

Les **procaryotes** sont identifiés aux bactéries : la plupart vivent comme des organismes monocellulaires mais certaines bactéries s'associent en chaînette. Les procaryotes ont leur ADN dans le cytoplasme de la cellule.

Les **eucaryotes** (ou « noyau-vrai ») possèdent un noyau, compartiment séparé du reste du contenu cellulaire, qui contient l'ADN.

Attention les virus, ou **acaryotes**, sont des éléments (et non des cellules) qui ne possèdent ni de noyaux ni de cytoplasme et ne peuvent se reproduire qu'en parasitant une cellule hôte en détournant la machinerie cellulaire.



I) Les cellules procaryotes

Les cellules procaryotes sont divisées en deux types cellulaires :

- Les **archéobactéries** qui prennent en compte les cellules méthanogènes, les cellules halophiles et les cellules thermoacidophiles. Les archéobactéries sont les premières à coloniser les roches nues car elles survivent avec le minimum de ressources.
- Les **eubactéries** (ou « vraie-bactérie ») sont les plus proches des bactéries actuelles. Elles prennent en compte les bactéries contemporaines, les mycoplasmes et les cyanobactéries.

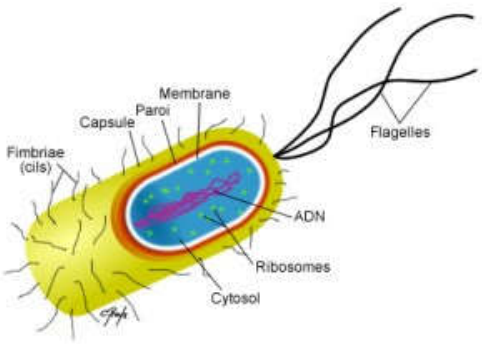
Le procaryote classique est Escherichia-coli (ou E-coli), qui est une bactérie habitant dans la flore intestinale humaine grâce à une paroi cellulaire rigide.

Les bactéries se distinguent de part leurs parois cellulaires mise en évidence par la coloration de Gram. On trouve des bactéries « gram + » et des bactéries « gram – » :

- Les **bactéries gram +** retiennent le colorant, coloration violette. Leurs parois possèdent une couche unique de peptidoglycane qui repose sur la membrane plasmique, les deux constituent la paroi cellulaire. On pourra prendre comme exemple les **staphylocoques**.
- Les **bactéries gram –** sont beaucoup plus perméables au colorant, coloration rose. Leurs parois sont constituées d'une couche fine de peptidoglycanes qui repose sur la membrane plasmique entourée par une membrane externe : il y a donc trois couches. L'exemple le plus pertinent sera **Escherichia-coli**.

Les cellules procaryotes contiennent un compartiment unique, le cytoplasme, contenant un chromosome ou une molécule d'ADN unique qui est le plus souvent circulaire et que l'on appelle le **nucléoïde**.

Les bactéries se répliquent rapidement par division cellulaire ou **scissiparité**. Elles peuvent être pathogènes ou non pathogènes.



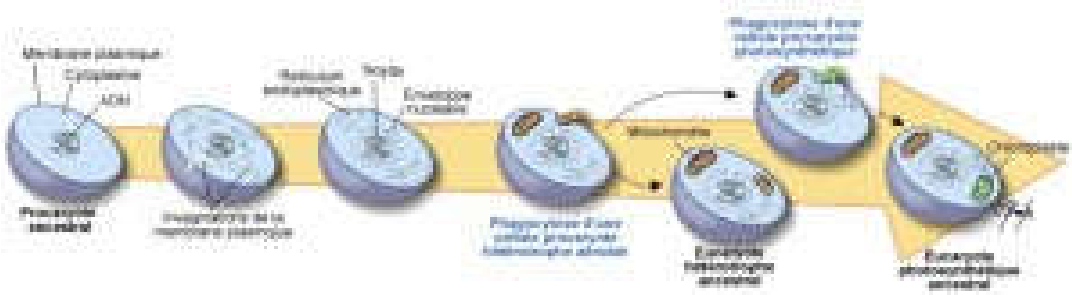
II) Les cellules eucaryotes

1) Caractéristiques générales des cellules eucaryotes

Les eucaryotes correspondent aux organismes multicellulaires (animaux, plantes, champignons) ainsi qu'à quelques eucaryotes unicellulaires. Le modèle eucaryote est un vers appelé ***Caenorhabditis Elegans*** qui a les mêmes mécanismes moléculaires et biochimiques que l'ensemble des organismes multicellulaires tout en étant facilement étudiable car il possède un nombre limité de cellules (131 cellules).

Les eucaryotes monocellulaires correspondent aux **protistes** qui sont de deux types : animal les **protozoaires** et végétal les **protophytes**. Le modèle protistes est la levure ou ***Saccharomyces Cerevisae*** qui est un champignon à paroi cellulaire rigide qui absorbe des sucres pour sécréter de l'alcool et du CO_2.

Les cellules végétales sont le sommet de l'évolution végétale : elles sont capables de synthétiser toutes substances organiques à partir de matière inorganique et de lumière (cf. cours de *biologie végétale*, chapitre *photosynthèse*). Elles contiennent des chloroplastes présentant des vacuoles volumineuses limitées par une double membrane qui correspondent à des saccules empilées les unes sur les autres appelées **thylakoïde**, où se réalisent la photosynthèse et donc qui contiennent de la chlorophylle. Les chloroplastes, comme les mitochondries, peuvent se reproduire et possèdent leurs propres ADN.



2) Organisation des cellules eucaryotes

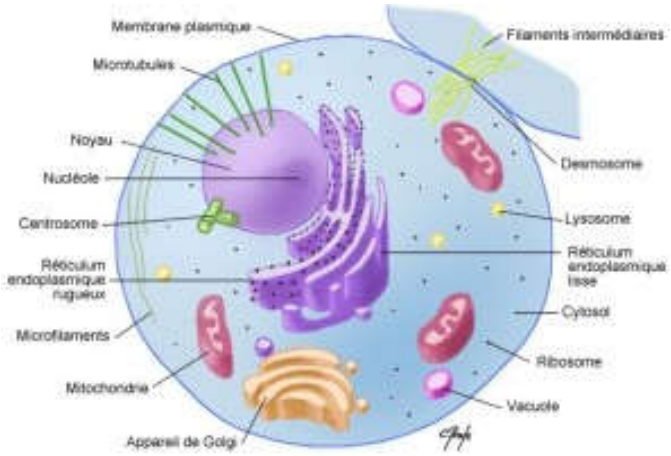
Comme dit précédemment, les cellules eucaryotes sont délimitées par une membrane (animaux) ou paroi (végétaux) et possèdent un noyau qui est l'organite contenant le génome de l'individu.

Dans la cellule eucaryote il existe également des organites qui font soit parti du système endo-membranaire, soit parti des organites clos (peroxysomes, mitochondries et chloroplastes).

Le **système endo-membranaire** correspond à l'ensemble des saccules limité par des membranes simples en communication permanente les unes avec les autres, et avec la membrane plasmique grâce à des vésicules (réticulum-endoplasmiques, enveloppe nucléaire, appareils de Golgi, lysosomes et endosomes). Ils consomment tous de l'énergie.

Les **organites clos** sont les principaux transformateurs énergétiques de la cellule, ils permettent la formation d'énergie.

D'autre part le **cytosquelette** permet le maintien de la morphologie cellulaire, la position des organites dans la cellule et le transport de différents composants cytoplasmiques. Parmi eux on trouve les microfilaments d'actine, les microtubules et les filaments intermédiaires de cytokératine.



3) Homéostasie

« Le milieu dans lequel baignent la plupart des cellules de l'organisme eucaryote multicellulaire est la portion interstitielle du liquide extracellulaire. Le fonctionnement normal des cellules dépend de la constance de ce liquide et il n'est donc pas étonnant que chez les eucaryotes multicellulaires, de multiples mécanismes régulateurs se soient développés pour en maintenir les conditions. L'**homéostasie** décrit les différents arrangements physiologiques qui permettent de rétablir l'état normal après une perturbation. » (*Physiologie médicale de William Ganong, publié par De Boeck Université*).

III) Les caractères distinctifs entre procaryote et eucaryote

1) Les procaryotes

Les cellules procaryotes ne possèdent pas de noyaux et possèdent un ADN circulaire ou linéaire, situé dans le cytoplasme et haploïde à l'état végétatif. De cette manière la réplication, la transcription et la traduction de l'ADN se fait directement dans le cytoplasme.

Les procaryotes n'ont pas de cloisonnement cytoplasmique et leurs membranes ne possèdent pas de stérols mais elles sont doublées d'une couche de peptidoglycane formant la paroi cellulaire (*cf. plus haut dans le cours*). La substance fondamentale du cytoplasme est appelé le **cytosol** qui est rigide chez les procaryotes, avec une absence de flux (ni exocytose, ni endocytose). Les procaryotes ne possèdent ni organites ni cytosquelette.

2) Les eucaryotes

Les cellules eucaryotes possèdent un noyau qui est l'organite le plus volumineux et qui est délimité par une double membrane appelée enveloppe nucléaire. Dans le noyau se réalise la réplication et la transcription de l'ADN ; la traduction se fait dans le cytoplasme de la cellule.

Les eucaryotes ont des cloisonnements cytoplasmiques permettant la formation des organites (noyau réticulum endoplasmique, appareil de golgi, lysosomes, peroxysomes et vésicules), ces organites nagent dans le cytosol qui chez les eucaryotes est fluide avec présence de flux grâce au cytosquelette (*cf. suite du cours*). Les membranes plasmiques ne sont pas doublées d'une paroi pour les animaux, mais doublées pour les végétaux (**paroi pecto-cellulosique**) et pour les champignons (**paroi polysaccharidique**) ; dans tous les cas il y a absence de peptidoglycane mais présence de stérols.

Matthieu SIMON
Fondateur et rédacteur principal de Cours-Pharmacie

Méthodes d’études cellulaires – Cours Pharmacie

I) Les méthodes d’observation

1) Méthodes et techniques d’observations des cellules

L’observation des cellules est délicate du fait de leurs très petites tailles, et nécessite un certain nombre d’appareillages dont les microscopes. On distingue deux grands types de microscopes suivant leur résolution : les microscopes optiques et les microscopes électroniques.

a) Microscopes optiques

Les **microscopes optiques** (à lumière ou photoniques) permettent l’observation de cellules vivantes ou mortes, grâce à des coupes très fines de préparations fixées. Les microscopes optiques utilisent de la lumière visible et la qualité de l’image dépend du pouvoir séparateur qui donne la résolution du microscope limitée par la longueur d’onde de la radiation lumineuse. On obtient donc un grossissement x1000.

Pour les **microscopes optiques à fluorescence** la lumière reçue par l’œil ne traverse pas l’objet ; ici on utilise des molécules fluorescentes appelées des fluorochromes, qui sont utilisés comme colorant. La lumière excite les fluorochromes qui réémettent dans des plus grandes longueurs d’ondes c’est-à-dire dans des énergies plus basses.

Dans ce type de microscope on utilise des filtres qui permettent la formation d’une lumière monochromatique qui éclairera l’échantillon (*cf. cours de physique*). Les microscopes optiques à fluorescence nécessitent des cellules fixées, des coupes minces et entraînent malheureusement des superpositions d’images.

Les microscopes optiques à fluorescence sont souvent équipés de **microscopie confocale** qui remédie à la superposition d’images, en étudiant la cellule plan par plan.

b) Microscopes électroniques

Les **microscopes électroniques** utilisent des faisceaux d’électrons qui sont chargés, possèdent une masse et se comportent comme une onde. Plus les électrons sont accélérés plus les longueurs d’onde diminuent et plus la résolution augmente. Ces électrons possèdent des compartiments possédant un vide parfait afin de maintenir rectiligne les faisceaux d’électrons, et des lentilles électromagnétiques qui forment un condensateur. On obtient ici un grossissement x 100 000. Les microscopes électroniques nécessitent la déshydratation de l’échantillon et donc la mort des cellules et du fait du faible pouvoir pénétrant des électrons les échantillons doivent être sous forme de coupes ultra fines et donc soumis à des inclusions.

La **microscopie électronique à balayage** consiste à balayer une préparation par un faisceau d’électrons, permettant la mise en évidence des reliefs de l’échantillon.

2) Techniques de préparation des échantillons

a) Etudes des structures

Afin d’étudier des structures on utilise un certain nombre de techniques : préparation des coupes fines,

coloration négative, ombrage métallique, cryodécapage.

La **préparation des coupes fines** se fait en plusieurs étapes :

1. La fixation se fait par le **formaldéhyde** et le **glutaraldéhyde**, qui sont des aldéhydes très réactifs. Malheureusement la fixation tue les cellules mais permet leur immobilisation et leur conservation.
2. La déshydratation permet l'élimination de l'eau en la remplaçant par des solvants de types **xylène** et **toluène**.
3. L'inclusion dans de la résine, cire ou paraffine, permet une solidification de l'échantillon, par leur polymérisation.
4. La formation des coupes ultrafines est réalisée par des **microtomes**.
5. La coloration des coupes se fait par différents types de colorants ou méthodes de mise en évidence :
   - Les **colorants métachromatiques** qui changent de couleur suivant la nature des structures colorées. On donnera comme exemple le **May-Grunwald-Giemsa** (**MGG**), qui correspond à l'association d'éosine et de bleu de méthylène, permettant la coloration des frottis sanguins.
   - Les **colorants histochimiques** comme l'**acide périodique de Schiff** qui colore les polysaccharides et le noir soudan qui colore les lipides.
   - La **méthode histo-enzymatique** qui permet la formation d'un produit coloré par action d'une enzyme sur son substrat incolore.

6. Le montage rend la préparation observable.

La **coloration négative** permet de mettre en évidence le contour de petits objets, grâce à des projections de métaux lourds sur la préparation.

Les **ombrages métalliques** permettent d'accentuer les reliefs d'un objet en vaporisant sous vide une très fine couche métallique avec un certain angle d'incidence entraînant la formation d'ombre portée.

b) Mise en culture

La culture cellulaire est obtenue après le maintien en vie de cellules plus de 24 heures dans un milieu de culture artificielle. On met en évidence deux types de cultures :

- Les **cultures organotypiques** sont soumises à un maintien de la différentiation morphologique et fonctionnelle. Ces fragments d'organes ou tissus sont appelés des explants.
- Les **cultures histiotypiques** correspondent à une multiplication active mais sans maintien de l'organisation.

II) Les méthodes de fractionnement subcellulaire

Les méthodes de fractionnement subcellulaire consistent à séparer les différents composants cellulaires par destruction de la membrane plasmique, puis par désorganisation de la cellule.

1) Homogénéisation

Le but de l'homogénéisation est de rompre la membrane plasmique (ou la paroi pour les cellules végétales et fongique). Pour se faire on met les cellules en suspension dans un tampon de pH et de force ionique connus.

L'**homogénéiseur** est un tube de verre dans lequel on place la préparation puis un piston en verre. La cellule passera entre le tube de verre et le piston, sera ainsi comprimée et éclatera, libérant son contenu dans le tampon.

On obtient un homogénat avec tous les constituants de la cellule. La plupart des organites restent intactes, mais sans précaution particulière l'appareil de Golgi et le réticulum endoplasmique vont être fragmentés sous forme de vésicules appelées **microsomes**.

2) Purification

a) Centrifugation différentielle

La centrifugation différentielle permet la purification de l'homogénat en fonction de la taille et de la densité de ses constituants. Pour se faire on centrifuge l'homogénat à différentes vitesses ; à chaque vitesse, différents organites se déposent dans le culot, qui sera prélevé :

- A 600g, on observe la sédimentation du noyau et du cytosquelette.
- A 15 000g, on observe la sédimentation des mitochondries, des lysosomes et des peroxysomes.
- A 100 000g (ultracentrifugation), on observe la sédimentation de la membrane plasmique, des microsomes et des grands polysomes.
- A 200 000g, on observe la sédimentation des ribosomes et des petits polysomes. Ce qui reste à la fin c'est la fraction hydrosoluble du cytosol.

b) Centrifugation par gradient préformé

La centrifugation par gradient préformé consiste à déposer une mince couche d'homogénat au dessus de la solution de saccharose dont la concentration varie de façon régulière et décroissante du bas vers le haut. Les différents constituants de l'homogénat sédimentent tous à des vitesses différentes, on obtient ainsi différentes bandes (la couche la plus dense étant au fond) que l'on séparera.

La **vitesse de sédimentation** dépend de la taille des molécules, de la forme des particules et de la densité. La vitesse de sédimentation est définie par le **coefficient de sédimentation** en unité **Svedberg** (**S**).

Matthieu SIMON
Fondateur et rédacteur principal de Cours-Pharmacie

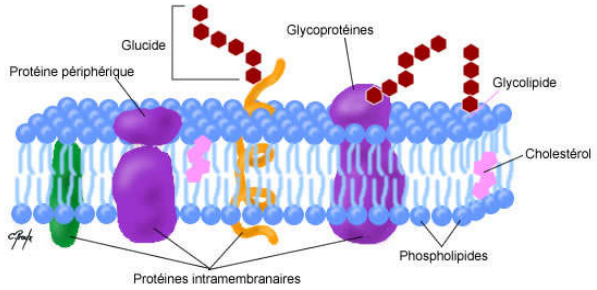
Les membranes cellulaires – Cours Pharmacie

- 1) La bordure en brosse
  - 2) Les microvillosités isolées
  - 3) Les intra-digitations

Les membranes cellulaires sont des doubles couches phospholipidiques dans lesquelles s'insèrent de manière **asymétrique** et **inhomogène** d'autres structures les caractérisant.

La membrane délimitant la cellule est appelée **membrane plasmique** et les membranes des organites sont appelées par le nom de l'organite concerné (membrane nucléaire, membrane mitochondriale, etc.).

En microscopie électronique on observe une tri-lamination de la membrane : un **feuillet clair** de 3 nm (environ 2 fois la longueur d'une chaîne d'acide gras) entouré par 2 **feuillets sombres** de 2,5 nm chacun ; l'épaisseur totale est donc d'environ **8 nm**. Ceci a permis de mettre en évidence la structure en bicouche phospholipidique de la membrane plasmique.



I) Composition des membranes

Les membranes sont constituées (en poids sec de membrane) de **40%** de **lipides**, **52%** de **protéines** et **8%** de **glucides**. En prenant en compte la différence de poids existant entre ces classes de molécules, on compte **50 molécules de lipides par molécule de protéine**.

1) Diversités des lipides membranaires

Au sein de la membrane les lipides sont présents sous différentes formes ; parmi elles on compte les phospholipides, les glycolipides et le cholestérol.

a) Phospholipides

Les phospholipides présentent tous une tête hydrophile (phosphate et groupement spécialisé) et une queue hydrophobe (glycérol et acides gras). On distingue deux types de phospholipides :

- Les **glycérophospholipides** correspondent à l'association de glycérol, de deux acides gras, d'un acide phosphorique et d'alcools ou d'acides aminés (*cf. cours de biochimie*). Les alcools ou les acides aminés donnent l'identité et la caractéristique du glycérophospholipides. Parmi les acides aminés on trouve la sérine et parmi les alcools on trouve l'inositol, l'éthanolamine et la choline ; on obtient ainsi la phosphatidyl-sérine, le phosphatidyl-inositol, la phosphatidyl-éthanolamine et la phosphatidyl-choline.
- Les **sphingophospholipides** correspondent à l'association de sphingosine, d'acide gras, d'acide

phosphorique et d'alcool ou d'acides aminés ; on obtient ainsi la sphingomyéline (par association de la choline).

b) Glycolipides

Les glycolipides sont de deux types, on trouve les **glycéroglycolipides** et les **sphingoglycolipides**. Il est intéressant de préciser que les glycolipides des membranes des érythrocytes (globules-rouges), définissent le groupe sanguin de l'individu.

c) Cholestérol

Le cholestérol est uniquement présent dans les membranes des cellules animales, en effet, il est absent des cellules végétales et des bactéries. Le cholestérol est composé d'un noyau stéroïde hydrophobe, d'une queue hydrophobe et d'une fonction alcool hydrophile. La molécule est donc amphiphile, représente environ un quart des lipides membranaires et influence la fluidité membranaire (*cf. cours de biochimie*).

2) Diversités des protéines membranaires

Les protéines membranaires ont des rôles bien spécifiques au sein de la double couche phospholipidique : récepteurs, transporteurs, adhérence cellulaire, catalyse enzymatique, messagers intracellulaires, etc. Chaque protéine possède une extrémité N-terminale et une extrémité C-terminale (*cf. cours de biologie moléculaire – Traduction*). Les protéines sont ancrées de différentes manières dans la membrane.

a) Les protéines extrinsèques

Les protéines extrinsèques sont localisées en dehors de la bicouche phospholipidique et sont ainsi soit entièrement intracellulaire, soit entièrement extracellulaire. Elles interagissent avec la membrane, par des liaisons électrostatiques de types liaisons hydrogènes et liaisons de Van der Waals, au niveau de domaines caractéristiques de protéines transmembranaires ou de lipides. Ces interactions étant faibles, elles sont rompues facilement par des variations de forces ioniques et de pH.

b) Les protéines ancrées dans des acides gras

Les protéines périphériques ancrées dans les lipides sont de deux types :

- Ancrées sur les **glyco-phosphatidyl-inositol** (**GPI**) qui correspondent à l'association d'une phospho-éthanol-amine sur des sucres, eux-mêmes ancrés sur un phosphatidyl-inositol. Ces protéines sont présentent sur la face extracellulaire de la membrane.
- Ancrées à la membrane par l'intermédiaire d'acide gras (acide palmitique et acide myristique). Ces protéines sont présentent sur la face intracellulaire de la membrane.

c) Les protéines transmembranaires

Les protéines transmembranaires traversent les deux feuillets de la membrane. Ces protéines sont liées de manière stable à la membrane avec l'environnement hydrophobe de la face interne de la membrane, par les acides aminés apolaires de leurs hélices α. Elles ne peuvent ainsi être séparées de la double couche phospholipidique (et donc étudiées) que par l'action de détergents.

3) Diversités des glucides membranaires

La grande majorité des glucides membranaires sont sous forme de glycoprotéines et une petite partie sous

forme de glycolipides. Au niveau de la membrane les glucides n'existent pas à l'état libre, ils sont liés à des protéines, par des **liaisons N-glycosidiques** (le plus souvent) et des **liaisons O-glycosidiques**, sous forme de petites glycoprotéines ou de protéoglycanes.

- Les **glycoprotéines** contiennent des polysaccharides courts, souvent ramifiés et n'excédant pas 50% du poids moléculaire de la glycoprotéine. Le sucre terminal est souvent de l'acide sialique chargé négativement.
- Les **protéoglycanes** sont également des glycoprotéines, mais qui contiennent des polysaccharides à chaîne longue composée d'unités disaccharidiques répétées à l'infini, représentant jusqu'à 90% du poids moléculaire globale. Souvent un des deux sucres de l'unité est aminé, on parle alors de **glyco-amino-glycane** (ou **GAG**) dont le plus simple est l'**acide hyaluronique**.

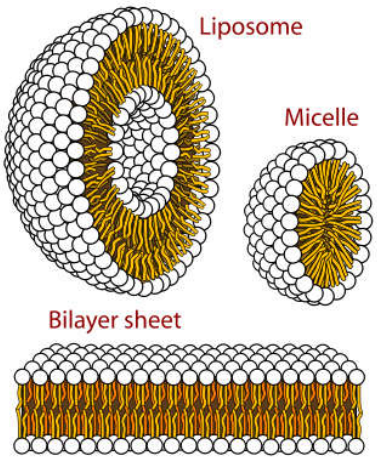
Pour information, les protéoglycanes sécrétoires composent la matrice extracellulaire (tissu conjonctif, cartilage, etc.) et sont différents des protéoglycanes cellulaire.

II) Propriétés des membranes

1) Auto-assemblage des lipides

Les phospholipides, dus à leurs propriétés physico-chimiques, s'assemblent de manière automatique en différentes sortes de structures suivant l'environnement :

- Les **monocouches** sont des couches mono-moléculaires dont les têtes hydrophiles sont dirigées vers le milieu aqueux et les queues hydrophobes vers le milieu lipidiques.
- Les **micelles** sont des formations sous la forme de gouttelettes rondes, où dans un milieu aqueux les têtes hydrophiles sont dirigées vers l'extérieur de la sphère et les queues hydrophobes sont dirigées vers l'intérieur (dans un milieu lipidique la conformation est inverse).
- Les **bicouches phospholipidiques** permettent la formation de vésicules sphériques appelées **liposomes**. Les bicouches phospholipides rentrent dans la formation des bicouches membranaires. Pour information, les liposomes sont actuellement utilisés en thérapeutique pour encapsuler des substances médicamenteuses.



Adhérence cellulaire – Cours Pharmacie

- ◦ ▪ a) Les jonctions serrées (ou *zonula-occludens*)
  - ▪ b) Les jonctions intermédiaires (ou *zonula-adherens*)
  - ▪ c) Les desmosomes
  - ▪ d) Les hémidesmosomes
  - ▪ e) Les jonctions communicantes de type nexus (ou jonctions gap)

L'adhérence cellulaire est une fonction indispensable que les organismes supérieurs ont acquis afin de permettre la formation de tissus, organes et systèmes qui s'efforcent de satisfaire les fonctions physiologiques nécessaire à la survie de l'individu.

L'adhérence cellulaire est permise d'une part grâce à la présence d'une matrice extracellulaire (adhérence indirecte) et d'autre part par la formation d'adhérence directe par la présence de molécules d'adhérence au sein des membranes plasmiques.

I) Les matrices extracellulaires

Les matrices extracellulaires sont des trames macromoléculaires (polysaccharides, protéines fibreuses et glycoprotéines) synthétisées par des cellules caractéristiques suivant le tissu considéré (fibroblastes, cellules épithéliales, ostéoblastes, chondroblastes, etc.). Ces cellules se fixent à la trame par des récepteurs membranaires de type **SAM** (*Substrate Adhesion Molecules* ; *cf. suite du cours*).

On trouve deux types de morphologie :

- Les **matrices extracellulaires lâches** sont des structures mésenchymateuses où les cellules se déplacent facilement (exemple : derme).
- Les **matrices extracellulaires denses** sont des structures dans lesquelles les cellules ne bougent pas (exemple : lame basale de l'épiderme).

Il est important de préciser que toutes les cellules produisent de la matrice extracellulaire, qu'elles soient d'origine bactérienne ou végétale, ainsi son existence n'est pas uniquement liée à l'état pluricellulaire de l'organisme.

1) Constituants de la matrice extracellulaire

a) Polysaccharides

Les polysaccharides sont principalement représentés par deux types de molécules :

- Les **glyco-amino-glycanes** (**GAG**) sont de longues chaînes (25 000 résidus), non ramifiées, formées de polymère de disaccharides dont l'un des deux est aminé. Les GAG ont la propriété de piéger l'eau formant un gel aqueux qui remplit la matrice.
- Les **protéoglycanes** correspondent sont liés à des protéines par liaison O-glycosidique avec des GAG non ramifiés.

b) Protéines fibreuses

Les protéines fibreuses sont principalement représentées par deux types de molécules :

- Les **fibres de collagènes** sont des glycoprotéines qui représentent 25% des protéines totales de l'organisme et qui permettent une résistance à de forte tension mécanique et ainsi la cohésion tissulaire (*cf. cours de biochimies*).
- Les **fibres élastiques** sont présentent dans les tissus soumis à des variations de tailles et de formes. Ces fibres élastiques sont formées de protéines, appelées les **élastines**, reliées entre elles et associées au collagène et aux polysaccharides, limitant les étirements excessifs.

c) Les autres glycoprotéines

D'autres glycoprotéines sont présentent dans la matrice extracellulaire, parmi elles on trouve la **fibronectine**, et plus particulièrement au niveau de la membrane basale la **laminine**.

2) La lame basale

La lame basale est une région différenciée de la matrice extracellulaire, située à la base des épithéliums ou autour de certaines cellules telles que les cellules endothéliales, les cellules graisseuses, les cellules musculaires et les cellules de Schwann. Elle est constituée de **laminine**, de **GAG**, de **protéoglycanes**, de **collagène de type IV** et d'autres glycoprotéines.

La lame basale étant à l'interface entre différents tissus, elle a une fonction de filtre, permet l'assise de cellules (épithéliales et endothéliales) et le contrôle de la localisation de protéines membranaires.

II) Molécules d'adhérences et jonctions intercellulaires

1) Les molécules d'adhérence

Parmi les molécules d'adhérence on trouve les **CAM** (pour *Cell Adhesion Molecules*) qui permettent l'interaction cellule-cellule et les SAM (pour Substrate Adhesion Molecules) qui permettent l'interaction cellule-matrice extracellulaire.

Ces interactions peuvent être **homophile**, c'est-à-dire qu'il y a interaction entre deux mêmes protéines, et **hétérophile**, c'est-à-dire qu'il y a interaction entre deux protéines différentes.

a) Immunoglobuline

Les immunoglobulines sont des monomères de la même superfamille que les anticorps, possédant également une chaîne lourde et une chaîne légère, avec des boucles fermées par des liaisons disulfure. Ce sont des glycoprotéines riches en acide sialique et possèdent une trentaine de membres, dont les N-CAM présentent au niveau du système nerveux.

Les immunoglobulines sont **calcium** (Ca^{2+}) **indépendante**, contrairement aux autres molécules d'adhérence, et sont exprimés de manière constitutive au niveau de la membrane plasmique, autrement dit en permanence. Elles réalisent des **liaisons homophiles** mais qui peuvent se faire avec des membres différents, ainsi que des **liaisons hétérophiles** avec des protéoglycanes de la matrice extracellulaire et des intégrines.

b) Cadhérine

Les cadhérines sont des glycoprotéines sous la forme de monomère, possédant une extrémité N-terminale extracellulaire et étant **calcium** (Ca^{2+}) **dépendante**. Les différents types de cadhérines sont spécifiques au tissu.

Ces molécules jouent un rôle principal dans les jonctions intercellulaires de type **desmosomes**. De cette manière leurs extrémités intracellulaires C-terminale interagiront avec les plaques denses ou directement avec les protéines du cytosquelette, et leurs extrémités extracellulaires N-terminale réaliseront des interactions homophiles et hétérophiles avec des autres cadhérines, des intégrines et des protéines de la matrice extracellulaire.

Dans les tissus, les cellules inhibent leurs propres croissances en interagissant les unes avec les autres et ceci grâce à la présence des cadhérines qui sont responsables de ce phénomène appelé **inhibition de contact**.

c) Sélectine

Les sélectines sont des glycoprotéines sous forme de monomère possédant une extrémité N-terminale extracellulaire. Les sélectines sont des lectines **calcium** (Ca^{2+}) **dépendante** qui ont la spécificité de reconnaître les groupements glucidiques d'autres glycoprotéines.

Les sélectines permettent la formation de liaison brève et de très haute spécificité. Elles ne sont pas exprimées en permanence, mais nécessite une activation entraînant son endocytose. Elles interviennent dans des interactions hétérophiles lors de la **diapédèse**.

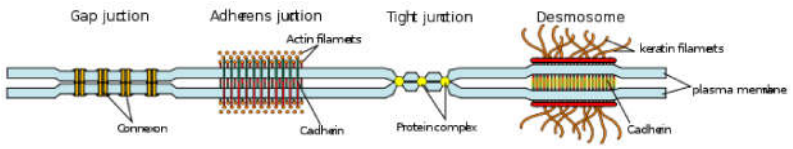
d) Intégrine

Les intégrines sont des glycoprotéines sous forme de **dimère** (αβ) présentant une extrémité extracellulaire N-terminale et étant elles aussi **calcium** (Ca^{2+}) **dépendante**.

Les intégrines interagissent avec les composants de la matrice extracellulaire et de la lame basale tels que les fibronectines, les laminines et le collagène. Elles interagissent également par des interactions hétérogènes avec des immunoglobulines et des cadhérines, et dans le milieu intracellulaire avec le cytosquelette.

2) Jonctions intercellulaires et jonctions cellules-matrice extracellulaire

Les **jonctions intercellulaires** sont des régions différenciées de la membrane plasmique responsable de l'adhérence intercellulaire et au niveau desquelles on distingue une concentration importante de molécules d'adhérence. Parmi elles on distingue les **jonctions serrées** (ou *Zonula Occludens*), les **jonctions intermédiaires** (ou *Zonula Adherens*), les **desmosomes**, les **jonctions communicantes** (de type nexus ou jonctions gap).



Les **jonctions cellules matrice-extracellulaire** sont des régions différenciées de la membrane plasmique responsable de l'adhérence entre les cellules et les éléments de la matrice extracellulaire. Elles sont également riches en molécules d'adhérence. Parmi elles on distingue les **hémidesmosomes**.

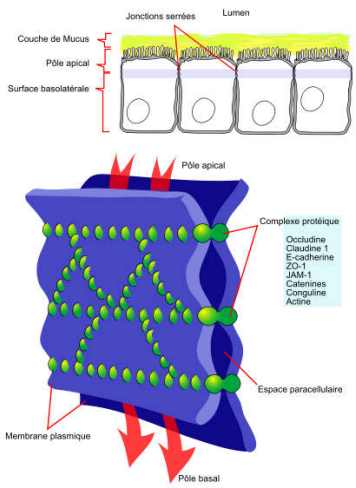
Ces jonctions sont présentent chez le animaux, mais pas chez les végétaux et les bactéries qui sont uniquement liés par leurs parois. Elles permettent une solidité mécanique d'une part et une communication cellulaire d'autre part.

a) Les jonctions serrées (ou *zonula-occludens*)

Les zonula-occludens sont des jonctions étanches qui ceinturent la cellule, d'où le terme de « zonula », au niveau du pôle apical et ceci notamment au niveau des épithéliums monocouches (endothélium et cellules polarisées par exemple au niveau des entérocytes et hépatocytes). Elles créées des occlusions qui interdissent entièrement la diffusion latérale des protéines ; l'espace intercellulaire est totalement obturé.

Elles sont composées d'**occludines** et de **claudines** qui sont des molécules calcium indépendantes et d'immunoglobulines dont les **JAM** (*Junctionnal Adhesion Molecule*).

Du côté cytoplasmique on trouve des protéines spécifiques appelées **protéines ZO** qui interagissent aves les molécules de la jonction d'une part, et permet l'ancrage des microfilaments d'actine (*cf. cytosquelette*) d'autre part, et ceci grâce à la **cinguline** qui joue le rôle d'adaptateur entre les protéines ZO et les microfilaments d'actine.

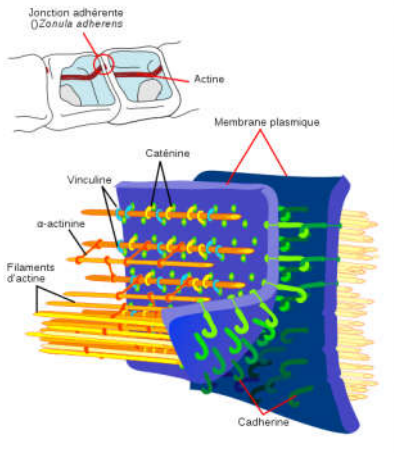


b) Les jonctions intermédiaires (ou *zonula-adherens*)

Les zonula-adherens sont également des jonctions qui ceinturent la cellule au niveau du pôle apicale, situées juste en dessous des zonula-occludens. Elles sont situées au niveau des cellules polarisées et laissent un espace intercellulaire plus important que les jonctions serrées.

Elles sont composées de **cadhérines** et de **nectines** qui sont des immunoglobulines spécifiques. Du côté cytoplasmique on trouve une plaque dense cytoplasmique où sont ancrées les cadhérines et les nectines :

- Les **caténines** permettent la jonction entre les microfilaments d'actines et les cadhérines.
- L'**afadine** et la **ponsine** permettent la jonction entre les microfilaments d'actines et les nectines.



Les desmosomes permettent l'adhérence intercellulaire, le maintien de la forme des cellules et une résistance cytoplasmique.

d) Les hémidesmosomes

Les hémidesmosomes sont présents au niveau du pôle basal et forment, comme dit précédemment, des jonctions avec la lame basale par interaction entre les intégrines des hémidesmosomes et les laminines de la lame basale.

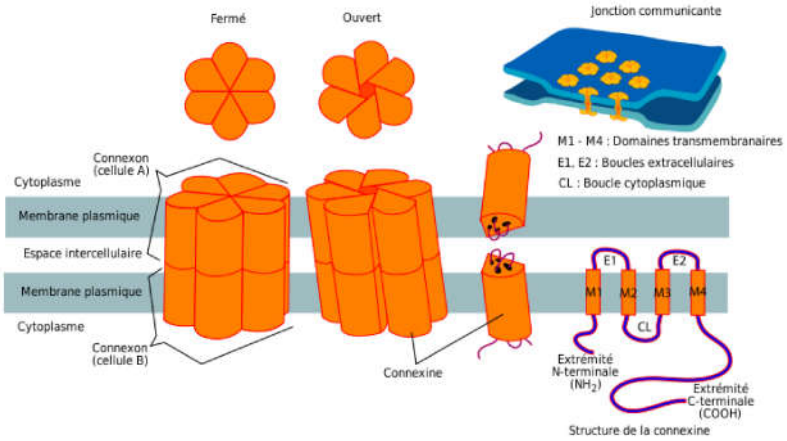
Comme les desmosomes, les hémidesmosomes présentent une plaque dense qui permet d'ancré les filaments intermédiaires de cytokératine. Ces derniers forment un réseau entre les plaques des desmosomes et hémidesmosomes permettant le maintient de la cohésion cellulaire.

e) Les jonctions communicantes de type nexus (ou jonction gap)

Au niveau des nexus on observe un espace intercellulaire de 2 à 3 nm. On les trouve au niveau des faces latérales des cellules épithéliales et également des cellules non épithéliales (fibroblastes, cellules musculaires, cellules osseuses, neurones, etc.).

Ils sont composés de plusieurs centaines de canaux bidirectionnels par association de l'un à l'autre provenant d'une cellule et de l'autre. Chaque canal est un **connexon** formé de 6 sous-unités, dont chaque sous-unité est une **connexine** qui possède 4 segments transmembranaires. Les nexus permettent une coopérativité métabolique intercellulaire en fonction du gradient de concentration (ions et petites molécules) et permet ainsi le transfert d'informations (second messagers tels que l'AMP cyclique, le calcium Ca2+ et certains enzymes).

Ces jonctions ne sont pas exprimées de manière constitutionnelle mais possèdent des demi-vies de l'ordre de 24 heures. La régulation de la perméabilité dépend donc de la concentration des nexus qui varie selon l'activité cellulaire.


Fermé
Ouvert
Jonction communicante
M1 - M4 : Domaines transmembranaires
E1, E2 : Boucles extracellulaires
CL : Boucle cytoplasmique
Connexon (cellule A)
Cytoplasme
Membrane plasmique
Espace intercellulaire
Membrane plasmique
Cytoplasme
Connexon (cellule B)
Connexine
E1
E2
M1
M2
M3
M4
CL
Extrémité N-terminale (NH_2)
Extrémité C-terminale (COOH)
Structure de la connexine

Les systèmes endosomale et lysosomale – Cours Pharmacie

- a) L'hétérophagie
- b) L'autophagie

I) Le système endosomale

Le système endosomale est un réseau complexe jouant un rôle important dans le tri de molécules incorporées dans les cellules. Ce système démarre immédiatement en dessous de la membrane plasmique et s'enfonce dans la cellule. Il peut être divisé en deux voies, chacune caractérisée par des structures bien particulières :

- La voie des endosomes précoces est caractérisée par les **endosomes de tri** et les **endosomes de recyclage**.
- La voie des endosomes tardifs est caractérisée par les **corps multi-vésiculaire**.

1) Voies des endosomes précoces

La voie des endosomes précoces est la première voie endosomale recruté suite à l'endocytose des vésicules nues découlant des puits recouverts.

a) Endosomes de tri

Les endosomes de tri possèdent un contenu acide, grâce aux H+ ATPases vésiculaires, qui est nécessaire à la dissociation des complexes ligand-récepteur. Ce pH passe donc de **7,4** (pH du milieu extracellulaire) à **6,5** (pH des endosomes tardifs).

Le tri est basé sur la structure tubulo-sphérique de l'endosome et sur le flux massique. En effet, les grosses molécules restent dans la sphère et les petites molécules migrent vers les tubules.

b) Endosomes de recyclage

Les endosomes de recyclage sont morphologiquement différents des endosomes de tri en étant sous la forme de tubules interconnectés.

Les récepteurs endocytés associés aux vésicules qui rentrent dans la voie endosomale sont réexpédiés vers la membrane en quittant les endosomes de tri. Les ligands quant à eux sont adressés à d'autres compartiments de la cellule.

2) Voies des endosomes tardifs

Les endosomes tardifs (**pH de 6,5**) ne correspondent pas à une transformation de l'endosome de tri, mais bel et bien à un nouveau compartiment. En effet, ils se présentent sous la forme de grosses structures vésiculaires contenant elles-mêmes de petites vésicules ; on appelle ces complexes des **corps multi-vésiculaire**. Ces derniers sont partiellement responsables de la dégradation des protéines par hydrolyse grâce à des enzymes hydrolytiques (hydrolases) provenant de l'appareil de Golgi via des **vésicules de**

transport.

Par la suite, l'endosome tardif à deux destinées différentes qui aboutissent au même résultat :

- soit il fusionne avec des vésicules d'hydrolyse, se trouvant être à nouveau des vésicules de transport en provenance de l'appareil de Golgi, formant un lysosome,
- soit il fusionne avec un lysosome préexistant.

II) Le système lysosomale

Les lysosomes sont des organites cellulaires associés à la digestion intracellulaire d'éléments absorbés par la cellule ou contenus dans la cellule.

1) Caractéristiques structurales des lysosomes

a) La membrane lysosomale

La membrane lysosomale est essentiellement composée de phospholipides. Les protéines, quant à elles, présentent pour la majorité une glycosylation dirigée vers le lumen, les protégeant des hydrolases. Les glycoprotéines enzymatiques membranaires caractérisent les lysosomes. Parmi elles on compte :

- Des **pompes à protons** responsables du pH acide (**entre 4,5 et 5,5**) des lysosomes.
- Des **protéines LAMP** (pour *« Lysosomes associated membrane protein »*) présentent sous deux isoformes (LAMP-1 et LAMP-2) au niveau des lysosomes matures, mais absentes des lysosomes primaires.
- Des **phosphatases acides**, uniquement présentent au niveau des lysosomes primaires.

Attention, les lysosomes ne présentent pas de récepteurs au mannose-6-phosphate, présents uniquement au niveau des endosomes et des endolysosomes.

b) Les hydrolases

Les hydrolases fonctionnent à pH acide (proche de 5) et catalysent l'hydrolyse de toutes les molécules que peut contenir la cellule (protéines, acides nucléiques, glucides et lipides). Chaque type d'hydrolases est spécialisé dans l'hydrolyse d'une classe de molécules. Ainsi, les **ribonucléases** lysent les ARN, les **désoxyribonucléases** lysent les ADN, les **protéases** lysent les protéines, les **polysaccharidases** lysent les sucres et les **lipases** lysent les lipides.

2) Formation des lysosomes

On distingue deux voies dans la formation des lysosomes :

- La **voie endosomale** correspond à la fusion du lysosome primaire, provenant du réseau trans golgien, avec un endosome tardif, permettant la formation de l'endolysosome qui formera le lysosome.
- La **voie lysosomale** correspond à la fusion du lysosome primaire avec un lysosome déjà existant. Les récepteurs au mannose-6-phosphate sont ici directement renvoyés au réseau trans golgien.

3) Les différents types de digestions

a) L'hétérophagie

L'hétérophagie correspond à la digestion de substances exogènes qui rentrent dans la cellule soit par endocytose soit par phagocytose. Les vésicules d'endocytose fusionnent avec les endosomes qui eux-mêmes fusionnent avec les lysosomes primaires pour former les lysosomes matures.

b) L'autophagie

L'**autophagosome** est une expansion du réseau trans-golgien qui entoure le matériel à digérer. Il fusionne ensuite avec des lysosomes, formant des **auto-phagolysosome**. L'autophagie joue un grand rôle dans le renouvellement des composants cellulaires.

Matthieu SIMON
Fondateur et rédacteur principal de Cours-Pharmacie

Les microfilaments d’actine – Cours Pharmacie

- 1) Caractéristiques structurales des microfilaments d’actine
  - 2) Mécanismes de synthèse des microfilaments d’actine
  - 3) Modulation chimique des réactions de polymérisation et dépolymérisation

- II) Organisations des microfilaments d’actine dans la cellule
  - 1) Protéines de fixation aux monomères d’actine
  - 2) Protéines de stabilisation des microfilaments d’actine
    - a) Stabilisation des microfilaments d’actine en faisceaux
    - b) Stabilisation des microfilaments d’actine en réseaux
  - 3) Protéines de fragmentation des microfilaments d’actine

- III) Fonction des microfilaments d’actine dans la cellule
  - 1) Fonction des microfilaments d’actine
  - 2) Fonction des faisceaux larges d’actine
  - 3) Fonction des faisceaux serrés d’actine

- IV) Les microfilaments d’actine dans les cellules musculaires striées
  - 1) Structure des sarcomères au microscope électronique
  - 2) Composition protéique des sarcomères

Les microfilaments d’actine sont les éléments les plus abondants du cytosquelette cellulaire. On en distingue plusieurs types suivant leur localisation :

- L’**actine α** est présente au niveau de cellules musculaires striées et lisses.
- L’**actine β** et l’**actine γ** sont présentent au niveau des autres types cellulaires.

I) Structure et synthèse des microfilaments d’actine

1) Caractéristiques structurales des microfilaments d’actine

Les microfilaments d’actine se présentent sous la forme d’une **double hélice** flexible de **5 à 8 nm de diamètre**.

Ils sont constitués de monomères d’**actine globulaire** (**actine G**) qui une fois polymérisés forme de l’**actine fibrillaire** (**actine F**). Les monomères étant **polarisés**, les microfilaments eux-mêmes le seront, présentant ainsi une extrémité positive et une extrémité négative.

2) Mécanismes de synthèse des microfilaments d’actine

La polymérisation de l’actine globulaire se fait préférentiellement, mais pas exclusivement, au niveau de l’extrémité positive ; autrement dit elle sera rapide au niveau de l’extrémité positive et lente au niveau de l’extrémité négative.

Cette polymérisation est **spontanée**, mais nécessite cependant une étape d’**activation de l’actine**

globulaire. Cette dernière est, dans son état inactivée, complexée avec de l'ADP. Son activation nécessite la présence de **Mg^{2+}** et d'**ATP**, permettant la formation d'un complexe « **actine G – ATP** » qui est disponible à la polymérisation. Une fois polymérisée, l'actine va lentement hydrolyser l'ATP pour devenir un élément stable. Dans un milieu riche en ATP on aura donc une polymérisation intense de l'actine.

Il est intéressant de préciser qu'au niveau des muscles, les filaments d'actines rentrent dans la composition des sarcomères qui sont les unités contractiles des cellules musculaires. Il est donc facile de comprendre que l'on ne peut pas se permettre de tels remaniements (polymérisation, dépolymérisation) sans perturber les fonctions contractiles des muscles. De cette manière, l'organisme à mis en place des moyens de blocage des microfilaments par le recrutement d'autres protéines (*cf. suite du cours*).

Au niveau des cellules musculaires, les microfilaments d'actine ne sont pas autant « encadrés », mais nous verrons dans la suite du cours que la cellule à mis en place d'autres d'autre mécanismes permettant de contrôler l'activité de l'actine.

3) Modulation chimique de la polymérisation et de la dépolymérisation

Certaines molécules, non physiologiques, ont la caractéristique de moduler les réactions de polymérisation et dépolymérisation :

- La **cytochalasine** bloque la polymérisation en se fixant à l'extrémité positive.
- La **phalloïdine** bloque la dépolymérisation en se fixant sur les faces latérales entre chaque monomère des microfilaments d'actines.

II) Organisations des microfilaments d'actine dans la cellule

Les microfilaments d'actine ont des rôles très variés dans la cellule. Selon la fonction les microfilaments s'organiseront différemment (**faisceau** ou **réseau**) et interagiront avec des protéines caractéristiques. Ces protéines sont appelées **ABP** (pour *Actin Binding Protein*) et ont chacune des propriétés bien particulières (dans la polymérisation et dépolymérisation, dans la stabilisation, dans la formation des faisceaux et réseaux, dans la fixation à la membrane, dans la fragmentation, etc.).

1) Protéines de fixation aux monomères d'actine

Les protéines se fixant aux monomères régulent la polymérisation de l'actine G. Principalement deux protéines ont cette fonction :

- La **profiline** se fixe à l'actine globulaire (actine G) pour former de la **profilactine** qui stimule la polymérisation au niveau de l'extrémité positive.
- La **thymosine** se fixe au complexe « actine G – ATP » et le séquestre, inhibant la polymérisation.

2) Protéines de stabilisation des microfilaments d'actine

a) Stabilisation des microfilaments d'actine en faisceaux

Parmi les protéines de stabilisation des microfilaments en faisceaux parallèle on trouve :

- L'**α-actinine** permet la formation de faisceaux larges donnant l'accès à la myosine de type 2 jouant un rôle primordial dans les faisceaux contractiles.

- La **fimbrine** et la **villine** permettent une stabilisation des microfilaments en faisceaux serrés non contractiles.
- La **tropomyosine**
- La **fascine**

b) Stabilisation des microfilaments d'actine en réseaux

Les protéines de stabilisation des microfilaments en réseaux sont des protéines de réticulation permettant de lier deux microfilaments se croisant. La formation de ces réseaux à pour conséquence l'augmentation de la viscosité du cytoplasme. Parmi elles on trouve la **filamine** et la **gélatine**.

3) Protéines de fragmentation des microfilaments d'actine

Comme leur nom l'indique, les protéines de fragmentation scindent les microfilaments d'actines. Ils ont ainsi la propriété de fluidifier le cytoplasme. Parmi elles on trouve la **gelsoline** qui est calcium Ca^{2+} dépendante. Les microfilaments d'actine sont concentrés sous la membrane plasmique, s'opposant à l'excrétion des grains de sécrétion. L'augmentation de calcium dans la cellule permet l'activation de la gelsoline et la fusion des grains de sécrétion avec la membrane.

III) Fonction des microfilaments d'actine dans la cellule

1) Fonction des microfilaments d'actine

Les microfilaments d'actine jouent un grand rôle dans le déplacement des organites dans la cellule, par l'association à de la myosine de type 1. Cette dernière fixe l'organite par sa queue et migre le long des microfilaments d'actine par sa tête.

2) Fonction des faisceaux larges d'actine

Comme dit précédemment, les faisceaux larges contiennent de l'**actine** associée avec de l'**α-actinine**. Ceci donne accès à la **myosine de type 2** qui a la caractéristique de posséder deux têtes globulaires à activité ATPasique et possédant des sites de phosphorylation. La polymérisation des molécules de myosine de type 2 entraîne la formation d'un filament bipolaire. L'hydrolyse de l'ATP permet aux têtes de pivoter le long des microfilaments d'actine et d'induire une **contraction**. Pour plus d'information sur la contraction des cellules musculaires striées, cf. suite de ce cours.

3) Fonction des faisceaux serrés d'actine

Également comme il a été dit plus haut dans le cours, les faisceaux serrés contiennent des microfilaments d'actine orientés de manière parallèle et associé à de la **villine** et de la **fimbrine**. On trouve ces faisceaux au niveau des **microvillosités** et des **lamellipodes** (*cf. ci-dessous*).
Au niveau des microvillosités, les faisceaux sont attachés à la membrane par de la **myosine de type 5** au niveau de l'apex (pointe) et par de la **myosine de type 1** latéralement.

Certaines cellules, telles que les fibroblastes, utilisent la polymérisation de l'actine pour se déplacer. En effet, ils forment prolongements cytoplasmique que l'on appelle des **lamellipodes** par polymérisation rapide de l'active au niveau de l'extrémité positive, associée à une dépolymérisation tout aussi rapide au niveau des extrémités négatives pour le réapprovisionnement. La pression exercée sur la membrane permet ainsi de

faire avancer la cellule.

IV) Les microfilaments d'actine dans les cellules musculaires striées

Les muscles squelettiques sont constitués de cellules ou fibres musculaires regroupées en faisceaux. Les cellules musculaires sont caractérisées par un appareil contractile correspondant à l'association bout à bout d'unités contractiles, appelés **sarcomères**. En microscopie électronique ces sarcomères donnent à la cellule un aspect strié par une succession de bande claire et sombre.

1) Structure des sarcomères au microscope électronique

Au microscope électronique les sarcomères ont un aspect bien particulier qui est leur est donné par l'assemblage des myofibrilles. On distingue différentes parties :

- Le **disque A** correspond la bande sombre constituée de **myosine** et d'**actine**.
- Le **disque I** correspond à la bande claire constituée uniquement d'**actine**.
- La **zone H** correspond à la zone constituée uniquement de **myosine**.
- La **ligne M** est la ligne centrale de la zone H et de tout le sarcomère.
- Le **disque Z** est au centre du disque I et correspond à la séparation des différents sarcomères. Il est constitué de l'**α-actinine**.

2) Composition protéique des sarcomères

Les sarcomères ont une composition protéique bien caractéristique lui permettant de préserver sa stabilité :

- Les **microfilaments d'actines** ont leurs extrémités positives au niveau du disque Z et leurs extrémités négatives vers le centre du sarcomère.
- La **tropomyosine** est associée aux microfilaments d'actine et les stabilise.
- La **myosine de type 2** s'auto assemble en un filament bipolaire qui s'encastre entre les microfilaments d'actine.
- L'**α-actinine** est située au niveau des disques Z et permet l'ancrage des microfilaments d'actines.
- La **nébuline** s'insère au niveau du disque Z, et s'associe aux microfilaments d'actine afin de contrôler leur assemblage et de déterminer leur longueur.
- La **tropomoduline** est présente au niveau des extrémités négatives des microfilaments d'actines et permet leur protection contre la dépolymérisation.
- Les **protéines cap Z** sont présentent au niveau des extrémités positives des microfilaments et les protègent également contre la dépolymérisation.
- La **titine** s'ancre à la myosine pour la relier à la ligne M et aux disques Z.

Matthieu SIMON
Fondateur et rédacteur principal de Cours-Pharmacie